

## ===== WPI =====

TI - Index glass for fluorescence optical instrument e.g. fluorescence microscope - has patterns of predetermined shape formed by mineral matter

AB - J09203865 The index glass has patterns of predetermined shape formed by mineral matter.

- When excited by irradiation of ultraviolet light, the patterns emit light in the visible spectrum.

- ADVANTAGE - Enables simultaneous viewing of fluorescent patterns and fluorescent image of sample.

- (Dwg.1/11)

PN - JP9203865 A 19970805 DW199741 G02B21/34 006pp

rk - JP19960010797 19960125

PA - (NIKR ) NIKON CORP

MC - S03-E04A9 S03-E04D S03-E04R

DC - P81 S03

IC - G01N21/01 ; G01N21/64 ; G02B21/34

AN - 1997-445050 [41]

## ===== PAJ =====

TI - INDEX GLASS AND FLUORESCENT OPTICAL APPARATUS FORMED BY USING THE INDEX GLASS

AB - PROBLEM TO BE SOLVED: To make it possible to observe marks which are references at the time of fluorescent observation and measurement and indices, such as coordinates, for alignment operation simultaneously with fluctuation images by forming prescribed patterns by inorg. materials which are excited by irradiation with UV rays to emit fluorescence.

- SOLUTION: Slide glass having fluorescent patterns is formed if the product formed by printing the surface of the sliding glass with opaque non-fluorescent ink is printed in the same manner as the conventional products by mingling the particles of the inorg. fluorescent materials with the ink of a transparent medium liquid. Various pattern including grid-shaped square shapes, scales (b), alignment reference lines and reference marks (c), photometric reference spot systems, reference shapes (d) of crystals and cells, etc., meeting purposes are conceivable as the patterns on such slide glass. The inorg. fluorescent materials used in this embodiment are the particulate powder of a strontium compd., etc., and may be excited by the UV rays. The fluorescence is substantially free from brown color and is stable.

PN - JP9203865 A 19970805

PD - 1997-08-05

ABD - 19971225

ABV - 199712

AP - JP19960010797 19960125

PA - NIKON CORP

IN - OHASHI YOSHITAKA

I - G02B21/34 ; G01N21/01 ; G01N21/64

(51)Int.Cl. <sup>a</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
G 0 2 B 21/34			G 0 2 B 21/34	
G 0 1 N 21/01			G 0 1 N 21/01	A
21/64			21/64	Z

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平8-10797

(22)出願日 平成8年(1996)1月25日

(71)出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72)発明者 大橋 祥高

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内

(54)【発明の名称】 指標ガラス及びそれを用いた蛍光光学機器

(57)【要約】

【課題】 蛍光観察・測定時に基準となるマークやアライメント操作のための座標等の指標が蛍光像と同時に観察することができる指標ガラス及び蛍光光学機器を提供する。

【解決手段】 紫外線の照射により励起されて可視光を発光する無機物質によって所定形状のパターンを形成した指標ガラス。



(a)



(b)



(c)



(d)

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 紫外線の照射により励起されて可視光を発生する無機物質によって所定形状のパターンが形成されたことを特徴とする指標ガラス。

【請求項2】 請求項1記載の指標ガラスをスライドガラス又はカバーガラスとして用いた蛍光光学機器であって、

試料の励起させる紫外線を該試料に対して照射する照射系と、

前記試料から発する蛍光を観察するための観察光学系と、

前記観察光学系の光路中に挿脱可能に配置され、前記紫外線が照射されたときに前記指標ガラス上のパターンから発する可視光の波長域を遮断するフィルターを有することを特徴とする蛍光光学機器。

【請求項3】 請求項1記載の指標ガラスをスライドガラス又はカバーガラスとして用いた蛍光光学機器であって、

試料を励起させる可視光線、及び前記指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線を前記試料に対して照射する照射系と、

前記試料から発する蛍光を観察するための観察光学系と、

前記照射系の光路中に挿脱可能に配置され、前記指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線の波長域を遮断するフィルターを有することを特徴とする蛍光光学機器。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、指標ガラス、及びそれを用いた蛍光光学機器に関し、特に蛍光顕微鏡に用いる指標ガラスに関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】蛍光顕微鏡に代表される蛍光標本サンプルの蛍光を観察・測定する装置においては、励起光のモレや反射などのフレア、不要自家蛍光などは極力カットされ、対象とする蛍光標本サンプル由来の蛍光のみが観察光学系に導かれる（以下、観察・測定対象となる蛍光標本サンプルを単に“サンプル”と称す）。従って、観察光学系によって観察されるサンプルの蛍光像は、通常真暗なバックグラウンドの中に、蛍光を発する部分のみが光って見えている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】上述の如き従来の装置（例えば蛍光顕微鏡）においては以下のような不便な点がある。

1. 一度見た部位に戻りたいとか、染色をやり直して同一箇所を見たい時など、座標が判りにくい
2. 自動測定化する場合のアライメントの基準がとりにくい
3. スケールやパターンを重ねて写し込みにくい

第一の問題点については、格子やスケールをスライドガラス上に印刷した製品が既に知られており、この上にサンプルを配置すれば、明視野、位相差、DIC等の検鏡法ではサンプルとパターンの同時観察が可能であり、座標の識別は容易である。しかし、パターンは蛍光を発しないため、サンプルと同時に蛍光で見ることができなかった。

【0004】そこで、他の検鏡法と蛍光法の同時観察という方法が考えられるが、蛍光像は他の検鏡法にくらば百倍以上は暗いため、バックグラウンドが暗くないとよく観察ができない。たとえ、照明光をNDフィルタで減光してパターンを照明し、サンプルの蛍光像と重ねても、蛍光像もパターン像も見にくくなる問題がある。また、蛍光検鏡法と他の検鏡法を切り換えるのは、明るさや違いすぎて使いづらいという問題がある。

【0005】スキヤニングステージを使えば、同一座標の再現はもちろん可能であるが、高価なため、臨床分野までは殆ど普及していないのが現状である。第二の問題点であるアライメントについては、特開平6-250094号公報に開示されている技術が知られているが、蛍光検鏡法の場合はアライメント時に明視野照明をしなければならず、操作が煩雑になる問題までは解決されない。

【0006】第三の蛍光像にスケールのような別個のパターンを重ねるには、像面と共役な結像面に、照明可能なレチクルを配置し、照明しながら写し込むか、別光学系を使って結像面にパターン像を投影するか、カメラのデータバック機能に応用する等の方法が知られている。しかし、いずれも装置が複雑となり、高価になってしまうという問題がある。

【0007】本発明は上述の如き問題点に鑑み、蛍光観察・測定時に基準となるマークやアライメント操作のための座標等の指標が、蛍光像と同時に観察することができ、指標ガラス及び蛍光光学機器を提供することを目的とする。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】請求項1記載の本発明は、紫外線の照射により励起されて可視光を発生する無機物質によって所定形状のパターンが形成された蛍光光学機器用指標ガラスである。請求項2記載の本発明は、請求項1記載の指標ガラスをスライドガラス又はカバーガラスとして用いた蛍光光学機器であって、試料の励起させる紫外線を該試料に対して照射する照射系と、試料から発する蛍光を観察するための観察光学系と、観察光学系の光路中に挿脱可能に配置され、紫外線が照射されたときに指標ガラス上のパターンから発する可視光の波長域を遮断するフィルターを有することを特徴とするものである。

【0009】請求項3記載の本発明は、請求項1記載の指標ガラスをスライドガラス又はカバーガラスとして用

いた蛍光光学機器であって、試料を励起させる可視光線、及び指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線を試料に対して照射する照射系と、試料から発する蛍光を観察するための観察光学系と、照射系の光路中に挿脱可能に配置され、指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線の波長域を遮断するフィルターを有することを特徴とするものである。

【0010】本発明に用いる無機物質（無機蛍光物質）としては、ストロンチウム化合物、イットリウム化合物等の直径0.8〜数 $\mu\text{m}$ 程度の粒状性粉末である。340〜380nmの紫外線で励起ができ、蛍光は緑色が殆どない位安定しており、後述のように種類により蛍光の波長域が異なっている。印刷用インクやシリコン系の媒液にもよく混ざると、ガラスの焼結温度（500〜600°C）にも耐えるので、ガラス上に印刷したり、エッチングしたガラスの溝に埋め込むことが可能である。この無機蛍光物質によってガラスに所定形状のパターンを形成する。これを例えばスライドガラスとして用い、サンプルを乗せて紫外線を含んだ励起光を照射すると、サンプル由来の蛍光と、該パターン由来の蛍光が得られる。

【0011】また、請求項2及び3に記載の本発明においては、サンプルとパターンとの励起波長域または蛍光波長域が重ならない場合、パターンの蛍光または励起波長域の光をカットすることにより、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明における蛍光光学機器用指標ガラスの実施形態を図1a、図1b、図1c、図1dに示す。本実施形態は蛍光顕微鏡に用いるスライドガラスである。スライドガラス上のパターンとしては、図1aに示す格子状の方眼、図1bに示すスケール、図1cに示すアライメント基準線や基準マーク、図1dに示す測光基準スポット径列、結晶や細胞の基準形状等、目的に応じて様々なパターンが考えられる。

【0013】次に、上記パターンの形成されたスライドガラスの作成方法について述べる。不透明・非蛍光インクでスライドガラス上にパターンを印刷した製品は、既に市場に出回っているが、透明な媒液のインクに上述の無機蛍光物質の粒子を混ぜ、従来製品同様に印刷すれば、蛍光性のパターンを持ったスライドガラスが作成可能である。印刷で描ける線幅は0.8〜1mm程度である。

【0014】上記線幅よりも狭い線幅を形成する方法として、エッチング法を以下に述べる。まず、無蛍光性のガラス上にエッチングによって所定形状のパターンを形成する。エッチングでは幅10 $\mu\text{m}$ 〜、深さ数 $\mu\text{m}$ 〜数十 $\mu\text{m}$ の溝をガラス表面に加工できる。

【0015】ここに酸化シリコンを主成分とする媒液に上記無機蛍光物質の粒子を混ぜたものを塗り込んだ後、

600°Cで焼結する。また塗り込んだ上に酸化シリコンを含んだ媒液を吹き付け、焼結してガラス質の保護膜を形成することも可能である。純粋な酸化シリコンは励起波長である紫外線（UV光）を透過と共に、無蛍光性なので、混ぜた無機蛍光物質の蛍光発光を妨げたり自家蛍光をのせたりすることなく当該物質由来の蛍光を引き出せる。

【0016】また、化学的に安定なガラス質の媒質に該蛍光物質が封じ込まれているためこのガラス上に作成するサンプルの溶液に該蛍光物質が侵されたり、解け出したりすることがない。また、アルコール、キシレン、ベンジン等、プレバートの清掃に使われる有機溶剤にも、同様に耐性がある。上述の如きエッチング法によれば、サンプルや有機溶剤に対し、化学的に安定で顕微鏡観察に適した10 $\mu\text{m}$ 程度の線幅のパターンが形成されたスライドガラスを作成することができる。

【0017】図2aは本発明の指標ガラスをカバーガラスとした例であり、図2bは本発明の指標ガラスをガラス小片とした例である。後者はパターンのある側の面を接着面とし、図3のようにスライドガラスや研磨面上に貼りつけられるようにしたもので、後から基準点を追加する場合に使用できる。これらの実施形態も上述と同様の作成方法によって作成することができる。

【0018】次に、上述の如く作成されたスライドガラスを用いた蛍光顕微鏡の実施形態について説明する。図4は蛍光顕微鏡における落射蛍光用の光学系で、UV励起のサンプルの蛍光像を観察するものである。光源1から射出される励起光はレンズ2、視野絞り3、フィルタカセット5、対物レンズ7を介して試料8に照射される。フィルタカセット5は、励起フィルタ5a、ダイクロイックミラー5b、バリアフィルタ5cにより構成される。その波長特性は図5に示すように、励起フィルタ5aの透過波長域11が330〜380nm、ダイクロイックミラー5bの透過波長13が400nm以上、バリアフィルタ5cの透過波長12が420nm以上である。また、図6に示すように、通常UV励起の生物標本のサンプルは上記波長で励起すると400〜520nmの間に最大ピークを持つ蛍光を発し、600nm以上の蛍光は僅かとなる。サンプル8から発する蛍光は、フィルタカセット5のバリアフィルタ5c、ビームスプリッタ9を介して観察光学系10で観察される。

【0019】本実施形態に用いるスライドガラスは、UV光の照射によって図7（a）に示す波長域の蛍光を発するようなイットリウム化合物でスケール等のパターンをつけたものである。このような蛍光顕微鏡においては、図8（a）に示すようにサンプル由来の青白い蛍光像に加えて、スライドガラスに形成されたパターンの赤い蛍光像を観察することができる。

【0020】ここで、図9に示すような分光透過特性を示すバンドパスフィルタ6を補助リアフィルタとし

5

て、図4に示すフィルタカセット5へビームスプリッタ9間の光路中に挿入すると、図8(b)に示すようにスライドガラスに形成されたパターン由来の蛍光成分がカットされ、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。本実施形態の蛍光顕微鏡は、このフィルタを光路中に挿脱することができるとの切り換え装置(例えばターレット板やスライド装置等)を有する。

【0021】次に、本実施形態における蛍光顕微鏡で観察するサンプルがB励起とG励起の場合について考える。図11に示すようにB励起の励起波長19は490nm付近、蛍光波長20は520〜530nm付近にピークがある。G励起の励起波長21は550nm付近、蛍光波長22は590〜620nm付近にピークがある。この蛍光顕微鏡に用いるスライドガラスは、UV光の照射によって図7(b)に示す波長域の蛍光を発するようなストロンチウム化合物でスケール等のパターンをつけたものである。この波長域は図11aの18で示し、照射するUV光を17で示す。このような蛍光顕微鏡によりUV光およびサンプルの励起波長の光を照射すると、サンプル由来の緑〜赤色の蛍光像に加え、スライドガラスに形成されたパターンの青白い蛍光像を観察することができる。

【0022】ここで図10に示す分光透過特性のロングパスフィルタ4を補助励起フィルタとして、図4に示す光源1〜フィルタカセット5間の光路中に挿入すれば、スライドガラスのパターンを励起するUV励起の波長域がカットされるため、パターン像が消え、サンプル由来のB励起像又はG励起像のみを観察できる。この波長域は図11(b)の24で示す。

【0023】サンプルをB励起とG励起の試薬であるFITCとロダミンで二重染色し、図11(a)の分光透過特性23をもったトリプルバンドのフィルタカセットを用いて励起した場合を考えると、図10のロングパスフィルタを補助励起フィルタとして入れたら、図11(b)に示すようにUV励起部17がカットされ、B、G励起のみが有効になることがわかる。

【0024】以上の実施形態ではパターンの蛍光のカットをそれぞれ補助バリアフィルタや補助励起フィルタを加えることにより行ったが、ダイクロックミラーを固定しておき、バリアフィルタや励起フィルタをそれぞれ切換式としておいてパターンの蛍光の有無を切換えても同様の効果が得られる。また、これらフィルタの切換を電動化しておき、自動機でサンプルのアライメントを行なう時のみ基準線をディテクトできるようなことも可能である。

【0025】以上落射蛍光顕微鏡を例にとり説明したが、顕微鏡に限らず、UV光で励起する標本を観察、測定する装置であれば、全てに応用可能であることは言うまでもない。

【0026】

6

【発明の効果】本発明によれば、蛍光光学機器において観察されるサンプルの蛍光像と同時に、サンプルの蛍光像のコントラストを損なうことなく蛍光で光るスケール等のパターンを鮮明に重ねて見ることができる。また、請求項2及び3に記載の本発明においては、他の検鏡法を使用することなく、簡単な構成で安価にサンプルのアライメントや観察位置の再現をすることができる。また、パターン由来の蛍光または励起波長域の光をカットすることにより、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】(a)、(b)、(c)、(d)は夫々、本発明における蛍光光学機器用指標ガラスの実施形態を示す図である。

【図2】カバーガラスおよびガラス小片上に配置した実施形態であり、(a)は本発明の指標ガラスをカバーガラスとした実施形態を示す図であり、(b)は、ガラス小片とした実施形態を示す図である。

【図3】図2(b)に示すガラス小片をスライドガラス上に貼り付けた様子を示す斜視図である。

【図4】本発明の蛍光光学機器の実施形態である蛍光顕微鏡の概略的な構成を示す図である。

【図5】励起フィルタ5a、ダイクロックミラー5b、バリアフィルタ5cの夫々の分光透過特性を示す図である。

【図6】代表的なUV励起用サンプルの蛍光波長特性を示す図である。

【図7】無機蛍光物質の蛍光波長特性を示す図であり、(a)はイトリウム化合物の蛍光波長特性であり、

(b)はストロンチウム化合物の蛍光波長特性である。

【図8】蛍光像の観察例であり、(a)はサンプル由来の蛍光像とガラス上のパターン由来の蛍光像が見える様子を示す図であり、(b)はサンプル由来の蛍光像のみ見える様子を示す図である。

【図9】バンドパスフィルタ6の分光透過特性を示す図である。

【図10】ロングパスフィルタ4の分光透過特性を示す図である。

【図11】(a)はUV励起光、B励起光、G励起光と夫々に対応した蛍光の波長特性、及びトリプルバンドのフィルタカセットの分光透過特性を示す図であり、

(b)は図10に示すロングパスフィルタの分光透過特性を加えた図である。

【符号の説明】

- 1・・・光源
- 2・・・コレクタレンズ
- 3・・・視野絞り
- 4・・・補助励起フィルタ
- 5・・・フィルタカセット
- 5a・・・励起フィルタ

いた蛍光光学機器であって、試料を励起させる可視光線、及び指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線を試料に対して照射する照射系と、試料から発する蛍光を観察するための観察光学系と、照射系の光路中に挿脱可能に配置され、指標ガラス上のパターンを励起させる紫外線の波長域を遮断するフィルターを有することと特徴とするものである。

【0010】本発明に用いる無機物質（無機蛍光物質）としては、ストロンチウム化合物、イットリウム化合物等の直径0.8〜数 $\mu\text{m}$ 程度の粒状性粉末である。340〜380nmの紫外線で励起ができ、蛍光は青色が殆どない位安定しており、後述のように種類により蛍光の波長域が異なっている。印刷用インクやシリコン系の媒液にもく混ぜる上、ガラスの焼結温度（500〜600°C）にも耐えるので、ガラス上に印刷したり、エッチングしたガラスの溝に埋め込むことが可能である。この無機蛍光物質によってガラスに所定形状のパターンを形成する。これを例えばスライドガラスとして用い、サンプルを乗せて紫外線を含んだ励起光を照射すると、サンプル由来の蛍光と、該パターン由来の蛍光が得られる。

【0011】また、請求項2及び3に記載の本発明においては、サンプルとパターンの励起光波長域または蛍光波長域が重ならない場合、パターンの蛍光または励起波長域の光をカットすることにより、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明における蛍光光学機器用指標ガラスの実施形態を図1a、図1b、図1c、図1dに示す。本実施形態は蛍光顕微鏡に用いるスライドガラスである。スライドガラス上のパターンとしては、図1aに示す格子状の方眼、図1bに示すスケール、図1cに示すアライメント基準線や基準マーク、図1dに示す測光基準スポット径列、結晶や細胞の基準形状等、目的に応じて様々なパターンが考えられる。

【0013】次に、上記パターンの形成されたスライドガラスの作成方法について述べる。不透明・非蛍光インクでスライドガラス上にパターンを印刷した製品は、既に市場に出回っているが、透明な媒液のインクに上述の無機蛍光物質の粒子を混ぜ、従来製品同様に印刷すれば、蛍光性のパターンを持ったスライドガラスが作成可能である。印刷で描ける線幅は0.8〜1mm程度である。

【0014】上記線幅よりも狭い線幅を形成する方法として、エッチング法を以下に述べる。まず、無蛍光性のガラス上にエッチングによって所定形状のパターンを形成する。エッチングでは幅10 $\mu\text{m}$ 〜、深さ数 $\mu\text{m}$ 〜数十 $\mu\text{m}$ の溝をガラス表面に加工できる。

【0015】ここに酸化シリコンを主成分とする媒液に上記無機蛍光物質の粒子を混ぜたものを塗り込んだ後、

600°Cで焼結する。また塗り込んだ上に酸化シリコンを含んだ媒液を吹き付け、焼結してガラス質の保護膜を形成することも可能である。純粋な酸化シリコンは励起波長である紫外線（UV光）を通すと共に、無蛍光性なので、混ぜた無機蛍光物質の蛍光発光を妨けたり自家蛍光をのせたりすることなく当該物質由来の蛍光を引き出せる。

【0016】また、化学的に安定なガラス質の媒質に該蛍光物質が封じ込まれているためこのガラス上に作成するサンプルの溶液に該蛍光物質が侵されたり、解け出したりすることがない。また、アルコール、キシレン、ベンジン等、アレバートの清掃に使われる有機溶剤にも、同様に耐性がある。上述の如きエッチング法によれば、サンプルや有機溶剤に対し、化学的に安定で顕微鏡観察に適した10 $\mu\text{m}$ 程度の線幅でパターンが形成されたスライドガラスを作成することができる。

【0017】図2aは本発明の指標ガラスをカバーガラスとした例であり、図2bは本発明の指標ガラスをガラス小片とした例である。後者はパターンのある側の面を接着面とし、図3のようにスライドガラスや研磨面上に貼りつけられるようにしたもので、後から基準点を追加する場合に使用できる。これらの実施形態も上述と同様の作成方法によって作成することができる。

【0018】次に、上述の如く作成されたスライドガラスを用いた蛍光顕微鏡の実施形態について説明する。図4は蛍光顕微鏡における落射蛍光用の光学系で、UV励起のサンプルの蛍光像を観察するものである。光源1から射出される励起光はレンズ2、視野絞り3、フィルタカセット5、対物レンズ7を介して試料8に照射される。フィルタカセット5は、励起フィルタ5a、ダイクロイックミラー5b、バリアフィルタ5cにより構成される。その波長特性は図5に示すように、励起フィルタ5aの透過波長域1が330〜380nm、ダイクロイックミラー5bの透過波長13が400nm以上、バリアフィルタ5cの透過波長12が420nm以上である。また、図6に示すように、通常UV励起の生物標本のサンプルは上記波長で励起すると400〜520nmの間に最大ピークを持つ蛍光を発し、600nm以上の蛍光は僅かとなる。サンプル8から発する蛍光は、フィルタカセット5のバリアフィルタ5c、ビームスプリッタ9を介して観察光学系10で観察される。

【0019】本実施形態に用いるスライドガラスは、UV光の照射によって図7（a）に示す波長域の蛍光を発するようなイットリウム化合物でスケール等のパターンをつけたものである。このような蛍光顕微鏡においては、図8（a）に示すようにサンプル由来の青白い蛍光像に加えて、スライドガラスに形成されたパターンの赤い蛍光像を観察することができる。

【0020】ここで、図9に示すような分光透過特性を示すバンドパスフィルタ6を補助バリアフィルタとし

5

て、図4に示すフィルタカセット5へビームスプリッタ9間の光路中に挿入すると、図8(b)に示すようにスライドガラスに形成されたパターン由来の蛍光成分がカットされ、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。本実施形態の蛍光顕微鏡は、このフィルターを光路中に挿脱することができきる切り換え装置(例えばターレット板やスライド装置等)を有する。

【0021】次に、本実施形態における蛍光顕微鏡で観察するサンプルがB励起とG励起の場合について考える。図11に示すようにB励起の励起波長19は490nm付近、蛍光波長20は520〜530nm付近にピークがある。G励起の励起波長21は550nm付近、蛍光波長22は590〜620nm付近にピークがある。この蛍光顕微鏡に用いるスライドガラスは、UV光の照射によって図7(b)に示す波長域の蛍光を発するようなストロンチウム化合物でスケール等のパターンをつけたものである。この波長域は図11aの18で示し、照射するUV光を17で示す。このような蛍光顕微鏡によりUV光およびサンプルの励起波長の光を照射すると、サンプル由来の緑〜赤色の蛍光像に加え、スライドガラスに形成されたパターンの青白い蛍光像を観察することができる。

【0022】ここで図10に示す分光透過特性のロングパスフィルタ4を補助励起フィルタとして、図4に示す光源1〜フィルタカセット5間の光路中に挿入すれば、スライドガラスのパターンの励起するUV励起の波長域がカットされるため、パターン像が消え、サンプル由来のB励起像又はG励起像のみを観察できる。この波長域は図11(b)の24で示す。

【0023】サンプルをB励起とG励起の試薬であるFITCとローダミンで二重染色し、図11(a)の分光透過特性23をもったトリプルバンドのフィルタカセットを用いて励起した場合を考えると、図10のロングパスフィルタを補助励起フィルタとして入れたら、図11(b)に示すようにUV励起部17がカットされ、B、G励起のみが有効になることがわかる。

【0024】以上の実施形態ではパターンの蛍光のカットをそれぞれ補助バリアフィルタや補助励起フィルタを加えることにより行ったが、ダイクロイックミラーを固定しておき、バリアフィルタや励起フィルタをそれぞれ切換式にしてパターンの蛍光の有無を切換えても同様の効果が得られる。また、これらフィルタの切換を電動化しておき、自動機でサンプルのアライメントを行なう時のみ基準線を確認できるような装置を有することも可能である。

【0025】以上照射蛍光顕微鏡を例にとり説明したが、顕微鏡に限らず、UV光で励起する標本を観察、測定する装置であれば、全てに適用可能であることは言うまでもない。

【0026】

6

【発明の効果】本発明によれば、蛍光光学機器において観察するサンプルの蛍光像と同時に、サンプルの蛍光像のコントラストを損なうことなく蛍光で光るスケール等のパターンを鮮明に重ねて見ることができ、また、請求項2及び3に記載の本発明においては、他の検鏡法を使用することなく、簡単な構成で安価にサンプルのアライメントや観察位置の再現をすることができる。また、パターンの蛍光または励起波長域の光をカットすることにより、サンプル由来の蛍光のみを観察することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】(a)、(b)、(c)、(d)は夫々、本発明における蛍光光学機器用指標ガラスの実施形態を示す図である。

【図2】カバーガラスおよびガラス小片上に配置した実施形態であり、(a)は本発明の指標ガラスをカバーガラスとした実施形態を示す図であり、(b)は、ガラス小片とした実施形態を示す図である。

【図3】図2(b)に示すガラス小片をスライドガラス上に貼り付けた様子を示す斜視図である。

【図4】本発明の蛍光光学機器の実施形態である蛍光顕微鏡の概略的な構成を示す図である。

【図5】励起フィルタ5a、ダイクロイックミラー5b、バリアフィルタ5cの夫々の分光透過特性を示す図である。

【図6】代表的なUV励起用サンプルの蛍光波長特性を示す図である。

【図7】無機蛍光物質の蛍光波長特性を示す図であり、(a)はイットリウム化合物の蛍光波長特性であり、(b)はストロンチウム化合物の蛍光波長特性である。

【図8】蛍光像の観察例であり、(a)はサンプル由来の蛍光像とガラス上のパターン由来の蛍光像が見える様子を示す図であり、(b)はサンプル由来の蛍光像のみ見える様子を示す図である。

【図9】バンドパスフィルタ6の分光透過特性を示す図である。

【図10】ロングパスフィルタ4の分光透過特性を示す図である。

【図11】(a)はUV励起光、B励起光、G励起光と夫々に対応した蛍光の波長特性、及びトリプルバンドのフィルタカセットの分光透過特性を示す図であり、(b)は図10に示すロングパスフィルタの分光透過特性を加えた図である。

【符号の説明】

- 1・・・光源
- 2・・・コレクタレンズ
- 3・・・視野絞り
- 4・・・補助励起フィルタ
- 5・・・フィルタカセット
- 5a・・・励起フィルタ

7

8

- 5b...ダイクロイックミラー  
 5c...バリアフィルタ  
 6...補助バリアフィルタ  
 7...対物レンズ  
 8...標本  
 9...ビームスプリッタ  
 10...接眼レンズ  
 11...励起フィルタの透過波長特性  
 12...ダイクロイックミラーの透過波長特性  
 13...バリアフィルタの透過波長特性  
 14...サンプル由来の蛍光像

- 15...パターン由来の蛍光像  
 16...バックグランド  
 17...UV励起用励起フィルタの透過波長特性  
 18...UV励起用バリアフィルタの透過波長特性  
 19...B励起用励起フィルタの透過波長特性  
 20...B励起用バリアフィルタの透過波長特性  
 21...G励起用励起フィルタの透過波長特性  
 22...G励起用バリアフィルタの透過波長特性  
 23...ダイクロイックミラーの透過波長特性  
 24...ロングパスフィルタの透過波長特性

【図1】



(a)



(b)



(c)



(d)

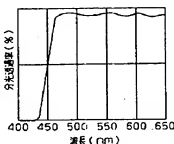
【図2】



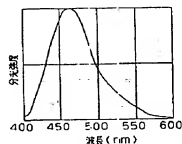
【図3】



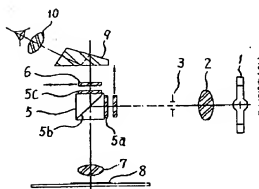
【図10】



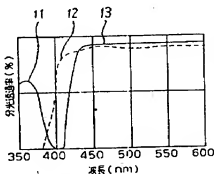
【図6】



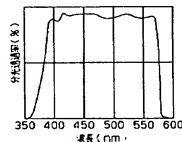
【図4】



【図5】

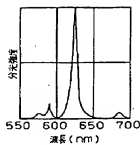


【図9】



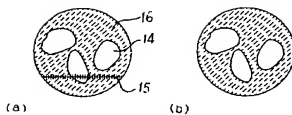


【図7】



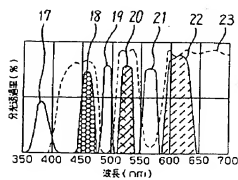
(a)

【図8】

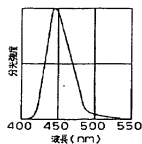


(b)

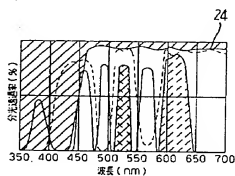
【図11】



(a)



(b)



(b)